

水晶体のアミノ酸代謝に関する研究 第1報:水晶体の遊離アミノ酸の加量的変動についての研究 第2報:正常水晶体の¹⁴C -Amino isobutyric acidの輸送の加量的変動についての研究

著者	渡邊 幸子
号	657
発行年	1970
URL	http://hdl.handle.net/10097/18903

氏 名 (本 籍) 渡 邊 幸 子

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学位記番号 医 第 6 5 7 号

学位授与年月日 昭和 45 年 12 月 9 日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

最 終 学 歴 昭和 3 7 年 3 月
岩手医科大学卒業

学位論文題目 水晶体のアミノ酸代謝に関する研究
第1報：水晶体の遊離アミノ酸の加令的変動
 についての研究
第2報：正常水晶体の $^{14}\text{C}\alpha\text{-Amino}$
 isobutyric acid の輸送の加令的
 変動についての研究

(主 查)

論文審査委員 教授 桐 沢 長 徳 教授 菊 地 吾 郎

教授 吉 沢 善 作

論文内容要旨

白内障の発生機序は極めて複雑であり、水晶体のエネルギー代謝、蛋白合成の障害、膜透過性の変動等の立場からいろいろ研究されているが、今尚解明されていない。もっとも一般的な老人性白内障を考えてみても老化ないし、加齢による水晶体の各種代謝の低下にのみもとづくものなのかも知明かでない。私は水晶体の代謝の老化現象を体系的に研究する必要があると考え、水晶体のアミノ酸代謝についての研究を行ない、第1報においてネズミの水晶体の遊離アミノ酸の加齢的変動について調べ、第2報においてこれらのアミノ酸の変動が水晶体の膜透過性の加齢的影響によるものかどうかを知る目的で、ネズミの水晶体を用いて $^{14}\text{C}\alpha$ -Aminoisobutyric acid (AIB)を添加した培養液中に培養し、AIBの水晶体内へのとりこみを検討し、更に若干の阻害物質を用いて、とりこみに対する阻害剤の影響について検討した。

第1報：正常水晶体の遊離アミノ酸の加齢的変動についての研究

Wistar系のネズミの生後7日から25日の幼若2群と、生後100日、1年以上の成熟2群の水晶体を用いた。剔出水晶体は十分にホモジネートして3倍量の冷4%ズルフォサリチル酸溶液を加えて遠沈し、除蛋白した。この上清を日立Automatic Aminoacid Analyser KLA-3B型を用いて遊離アミノ酸の分析を行った。その結果、水晶体は他の組織に較べて含硫アミノ酸が、特に、Glutathion (GSH)が高濃度に存在している。水晶体の遊離アミノ酸は加齢に伴って漸次減少の傾向をたどるものと、出生時よりほぼ一定値であり変動なく存在しているアミノ酸の2群に分けられる。中でもGSHは種々の白内障性水晶体においてその混濁の程度に比例して減少し、消失してゆくことが知られており、白内障発生の重要な因子の1つである。このGSH濃度は生後25日頃をPeakにしてその後、加齢と共に漸次減少してゆくの認められ、又チロシン、グルタミン、グルタミン酸、ヒスチジン等も加齢と共に減少する。これらの遊離アミノ酸の変動は水晶体膜の透過性の変動、水晶体の各種代謝などの低下にもとづくものと考えられ、これらは老化と関連あるものと思われる。

第2報：正常水晶体の $^{14}\text{C}\alpha$ -Aminoisobutyric acidの輸送の加齢的変動についての研究

同じくWistar系の各年令群のネズミの水晶体を用いて、加齢に伴う水晶体膜透過性の変動について検討した。剔出した水晶体を ^{14}C AIBを加えたTCMedium 199の中に経時的に培養し、培養後水晶体を取り出し囊に附着している放射能を生理的食塩水で洗い流し、充分に水晶体を

テフロンホモジナイザーでホモジネートし、次いで冷10%、5%トリクロール酢酸によりアミノ酸を抽出した。抽出液は液体 Scintillation Counter で計測し、水晶体湿重量1mg当たりの1分間の Count 数で表わした。沈渣の蛋白質には、放射能活性はなく、AIBは蛋白合成には関与しないアミノ酸であることを認めた。実験結果は次の如くであった。すなわちAIBは時間に比例して水晶体内に蓄積され、幼若群では極めて急速に8時間迄は直線的に、その後も相当急速に増加し24時間以降になりほぼ平衡状態に近づくのを認めた。成熟群においては、蓄積量は低いが、やはり12時間迄は直線的に増加しその後次第に平衡状態に達する。すなわちAIBは濃度勾配にさからって水晶体内に蓄積され、この過程は幼若群では成熟群に比して特に強く認められた。又水晶体湿重量、水晶体含水量、水晶体表面積などのいずれの点からみても幼若水晶体においてとりこみが強く認められた。濃度勾配に逆って水晶体内への輸送にはエネルギーを必要とし、いわゆる能動輸送とよばれるものである。その細かい機序についてはよく知られていないが、解糖、TCA回路、Na-KATPase等の関与が予想されているので、2,3の代謝阻害物質を用いて、これら両群がいかなる反応を示すかを検討してみた。代謝阻害物質としてはSodium fluoride, 2-4 Dinitrophenol, Ouabain を用い、あらかじめ調整した溶液をそれぞれ0.1 ml/10 ml Medium の割合に添加して、その中で水晶体を1時間培養した。その結果水晶体内へのAIBのとりこみの低下が両群共に認められた。以上のことよりアミノ酸輸送には解糖代謝、TCA回路、Na-KATPaseなどが関与していると考えられる。水晶体のアミノ酸輸送は能動輸送によって行われ、その能動輸送の場は水晶体前囊直下にある上皮細胞であり、幼若群と成熟群水晶体のアミノ酸輸送の差は上皮細胞の分化、広い意味で老化に帰因するものと考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

老人性白内障の成因は未だ不明であり、老化ないし加齢による水晶体の各種代謝の低下によるものか、その他に未知の原因が存するか否かも明らかでない。著者は水晶体の代謝の老化現象を系統的に研究する目的で、水晶体のアミノ酸代謝について研究を行なった。第1報においては、各年代の正常ネズミ水晶体の遊離アミノ酸をアミノ酸自動分析計を用いて分析した。その結果水晶体は他の組織に較べて含硫アミノ酸、中でも還元型グルタチオンが高濃度に存在しているのを認めた。多くの遊離アミノ酸は加齢と共に漸次減少の傾向をたどるが、特に還元型グルタチオン、グルタミン、グルタミン酸、チロチン、ヒスチチンは老化に伴って明らかに減少するのが見られ、これらが白内障発生の重要な因子の1つと考えられる。これらのアミノ酸の変動は、水晶体の膜透過性の加齢的影響によるものかどうかを知る目的で、第2報として各年令群のネズミの水晶体を用い、非代謝型の ^{14}C - α -Aminoisobutyric acid (AIBと略)を加えたTC199 medium中に経時的に培養し、AIBの水晶体内へのとりこみを検討し、次いで若干の代謝阻害剤を用いて、とりこみに対する阻害剤の影響を調べた。その結果は次の如くであった。すなわちAIBは水晶体内にとりこまれ、時間と共に蓄積され、幼若群ではそれが極めて急速に、8時間迄は直線的に、その後も可成り急速に増加し、24時間以降になりほぼ平衡状態に近づくのを認めた。成熟群では蓄積量は低いが、やはり12時間迄は直線的に増加し、その後次第に平衡状態に達する。すなわちAIBは濃度勾配に逆らって水晶体内へ移動蓄積されるのであり、この過程は幼若群では成熟群に比して特に強く認められた。この事は水晶体湿重量、水晶体表面積、水晶体水などのいずれの点からみても同様に、幼若水晶体において強く認められた。両群のアミノ酸のとりこみの差は、水晶体のactive transportが上皮細胞によって行なわれることから、幼若時には増殖が旺んであり、加齢と共に増殖が緩和となる細胞体の成長と分化の過程に帰因するものと考えられる。能動輸送の細かい機序については不明の点が多いが、 $\text{Na}-\text{KATPase}$ 、TCA回路、解糖代謝などの関与が予想されているので、Ouabain、2-4 Dinitrophenol, (D.N.P) Sodium fluoride等の阻害剤に対しての両群の反応を検討した。Ouabainでは両群共に強く阻害されるが、これはOuabainにより上皮細胞の機能が障害されて、uptakeが低下するためと考える。2-4 D.N.Pでは低濃度において幼若群では却ってとりこみの増加が認められたが、これは所謂Pastur効果と云われるもので、酸素消費を賦活して促進的に働くためであり、高濃度では呼吸が抑制されてTCA回路の進行が緩和となり、アミノ酸のとりこみが低下するためと考えられる。成熟群では、低濃度においても10-20%の阻害が認められた。弗化ソーダでは両群共にいずれの濃度においても阻害が認められた。Ouabainは $\text{Na}-\text{KATPase}$ の、2-4 D.N.Pは酸化的リン酸化反応の、又弗化ソーダは解糖過程におけるエノラーゼの作用を阻害すると云われていることから推して、水晶体のアミノ酸輸送には $\text{Na}-\text{KATPase}$ 、TCA回路、解糖代謝が関与していると考えられる。

以上の研究は学位に値するものと認められる。